

DAFTAR PUSTAKA

1. Ding GL, Liu Y, Liu ME, Pan JX, Guo MX, Sheng JZ. The effects of diabetes on male fertility and epigenetic regulation during spermatogenesis. 2015;(October 2014):948-953. doi:10.4103/1008-682X.150844.
2. Schoeller EL, Albanna G, Frolova AI, Moley KH. Insulin Rescues Impaired Spermatogenesis via the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in Akita Diabetic Mice and Restores Male Fertility. 2012;61(July):1869-1878. doi:10.2337/db11-1527.
3. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF Diabetes Atlas : Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011;94(3):311-321. doi:10.1016/j.diabres.2011.10.029.
4. Diabetes DOF. DEFINITION AND DESCRIPTION OF DIABETES OTHER CATEGORIES OF GLUCOSE. 2010;33. doi:10.2337/dc10-S062.
5. Inoue T, Murakami N, Ayabe T, et al. Pyruvate improved insulin secretion status in a mitochondrial diabetes mellitus patient. *J Clin Endocrinol Metab.* February 2016;jc20154293. doi:10.1210/jc.2015-4293.
6. La Vignera S, Condorelli RA, Di Mauro M, et al. Reproductive function in male patients with type 1 diabetes mellitus. *Andrology.* 2015;3(6):1082-1087. doi:10.1111/andr.12097.
7. Manaf A, Endokrin SM, Ilmu B, Dalam P. Use of Acarbose to Control Postprandial Hyperglycemia in Reducing Macrovascular Complication. 2010:1-14.
8. Ko EY, Jr SS, Agarwal A, Ph D. Male infertility testing : reactive oxygen species and antioxidant capacity. *Fertil Steril.* 2014;102(6):1518-1527. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.10.020.
9. Raheem AA, Garaffa G, Rushwan N, et al. Testicular histopathology as a predictor of a positive sperm retrieval in men with non-obstructive azoospermia. 2012;37:492-499. doi:10.1111/j.1464-410X.2012.11203.x.
10. Kyung W. Chung ; Harold M. Chung ; Nancy L. Halliday. *BRS Gross Anatomy.* 7th Ed. USA; 2012.
11. Netter FH. *Netter Atlas of Human Anatomy.* 5th Ed. USA; 2014.
12. Hansen JT. *Netter's Clinical Anatomy.* 2nd Ed. Philadelphia, PA; 2009.
13. Keith L. Moore , Arthur F. Dalley AM. A. *Clinically Oriented Anatomy.* 7th Ed. China; 2014.
14. Sherwood L. *Fundamental of Human Physiology.* 4th Ed. Canada; 2012.
15. Eroschenko VP. *diFiore's Atlas of Histology with Functional Correlation.* 11th Ed. USA; 2008.
16. Walker WH, Walker WH. Testosterone signaling and the regulation of

- spermatogenesis a n d e s i o s c i e n c e o. 2015;5562(December). doi:10.4161/spmg.1.2.16956.
17. França LR, Hess RA, Dufour JM, Hofmann MC, Griswold MD. The Sertoli cell: one hundred fifty years of beauty and plasticity. *Andrology*. February 2016. doi:10.1111/andr.12165.
 18. Rato L, Alves MG, Socorro S, Duarte AI, Cavaco JE, Oliveira PF. Metabolic regulation is important for spermatogenesis. *Nat Rev Urol*. 2012;9(6):330-338. doi:10.1038/nrurol.2012.77.
 19. Aly HAA, El-beshbishy HA, Banjar ZM. Mitochondrial dysfunction induced impairment of spermatogenesis in LPS-treated rats : Modulatory role of lycopene. *Eur J Pharmacol*. 2012;677(1-3):31-38. doi:10.1016/j.ejphar.2011.12.027.
 20. Victor Rodwell ; David Bender ; Kathleen M. Botham ; Peter J. Kennelly ; P. Anthony Weil. *Harper's Illustrated Biochemistry 30th Edition*. USA; 2015.
 21. Gunes S, Alsadaanasan M, Agarwal A. Spermatogenesis, DNA damage and DNA repair mechanisms in male infertility. *Reprod Biomed Online*. 2015. doi:10.1016/j.rbmo.2015.06.010.
 22. Metabolism O, Infertility M. *Reproductive Sciences*. 2012;(November). doi:10.1177/1933719112459232.
 23. Meistrich ML, Hess RA. Assessment of Spermatogenesis Through Staging of Seminiferous Chapter 27 Assessment of Spermatogenesis Through Staging of Seminiferous Tubules. 2015;(December). doi:10.1007/978-1-62703-038-0.
 24. Semenkovich K, Brown ME, Svrakic DM, Lustman PJ. Depression in type 2 diabetes mellitus: prevalence, impact, and treatment. *Drugs*. 2015;75(6):577-587. doi:10.1007/s40265-015-0347-4.
 25. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*. 2014;38(Supplement_1):S8-S16. doi:10.2337/dc15-S005.
 26. Alam R, Khan S, Salman KA. MDA and Antioxidants Status in Type 2 Diabetes Mellitus. 2013;4(6):75-78.
 27. Daiber A, Di Lisa F, Oelze M, et al. Crosstalk of mitochondria with NADPH oxidase via reactive oxygen and nitrogen species signalling and its role for vascular function. *Br J Pharmacol*. December 2015. doi:10.1111/bph.13403.
 28. Celino FT, Yamaguchi S, Miura C, et al. Tolerance of Spermatogonia to Oxidative Stress Is Due to High Levels of Zn and Cu / Zn Superoxide Dismutase. 2011;6(2):1-11. doi:10.1371/journal.pone.0016938.
 29. Schieber M, Chandel NS. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. *CURBIO*. 2014;24(10):R453-R462. doi:10.1016/j.cub.2014.03.034.
 30. Stefani GP, Baldissera G, Nunes RB, Heck TG, Rhoden CR. Metabolic Syndrome and DNA Damage: The Interplay of Environmental and

- Lifestyle Factors in the Development of Metabolic Dysfunction. *Open J Endocr Metab Dis.* 2015;05(07):65-76. doi:10.4236/ojemd.2015.57009.
31. Shah A, Xia L, Goldberg H, Lee KW, Quaggin SE, Fantus IG. Thioredoxin-interacting Protein Mediates High Glucose-induced Reactive Oxygen Species Generation by Mitochondria and the NADPH. 2013;288(10):6835-6848. doi:10.1074/jbc.M112.419101.
 32. Copen CE, Stephen EH. Infertility and Impaired Fecundity in the United States , 1982 – 2010 : Data From the National Survey of. 2013;(67).
 33. Reza A, Mangoli E, Nahangi H, Anvari M, Pouretezari M, Halvaei I. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology Vitamin C attenuates detrimental effects of diabetes mellitus on sperm parameters , chromatin quality and rate of apoptosis in mice. *Eur J Obstet Gynecol.* 2014;181:32-36. doi:10.1016/j.ejogrb.2014.07.007.
 34. Tafuri S, Ciani F, Iorio EL, Esposito L, Cocchia N. Reactive Oxygen Species (ROS) and Male Fertility. 2015.
 35. Dewi A. Peranan ROS dari Mitokondria pada Resistensi Silang antara Radiasi dan Docetaxel . Program Studi Magister IKM; Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran. 2014.
 36. Eliza Anas A. efek pemberian jus tomat terhadap spermatogenesis pada tikus putih jantan dewasa hyperkholesterolemia. 2011;35(1):29-36.
 37. Signaling RA, Zhao Z, Koltai E. Oxygen Consumption and Usage During Physical Exercise : The Balance Between Oxidative Stress. 2013;18(10):1208-1247. doi:10.1089/ars.2011.4498.
 38. Johnsen SG. Testicular biopsy score count--a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones.* 1970;1(1):2-25. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5527187>. Accessed February 19, 2016.
 39. Supranto J. *Teknik Sampling Untuk Survei Dan Eksperimen.* Jakarta: Penerbit PT. RinekaCipta; 2000.
 40. Nugroho AE. *Hewan Percobaan Diabetes Melitus Patologi Dan Mekanisme Aksi Diabetogenik.* Biodeversi.; 2006.
 41. Hastuti WT, Sari HI, Wirastiti A, - R, Trihantoro S. PRODUCING THE JELLY MADE OF SAMBUNG NYAWA AND STEVIA LEAVES TO DECREASE THE GLUCOSE LEVEL IN THE BLOOD. *Pelita - J Penelit Mhs UNY.* 2015;8(1). <http://journal.uny.ac.id/index.php/pelita/article/view/2765>. Accessed February 19, 2016.

Lampiran 1. Perhitungan dosis aloksan

1. Dosis Aloksan: Dosis aloksan pada tikus 150 mg/kgBB

$$\text{Pada tikus 200 g} = (200 \text{ g} / 1000 \text{ g}) \times 150 \text{ mg/kgBB}$$

$$= 30 \text{ mg/ tikus 200g}$$

30 mg aloksan dilarutkan dalam 0,5 larutan Na fisiologis.

Lampiran 2. Pembuatan Preparat Histopatologi Testis

1. Pembuatan zat fiksasi dengan buffer formalin 10% :
 - larutan formaldehide 37% 100cc
 - aquadest 900cc
 - sodium dihidrogen fosfat monohidrat 4,0 g
 - disodium hidrogen fosfat anhidrat 6,5 gPH sebaiknya 7,2 – 7,4.
2. Pengambilan jaringan testis.
3. Lakukan irisan jaringan testis sejajar berjarak kira – kira 1 cm agar seluruh jaringan terpapar formalin.
4. Lakukan metode prosesing jaringan :
 1. Masukkan sesegera mungkin jaringan didalam wadah yang berisi buffer formalin 10% untuk fiksasi dengan volume minimal 5 kali volume jaringan (sebaiknya kurang dari 30 menit) selama 6 – 36 jam.
 2. Dehidrasi selama 4 – 6 jam dengan tahapan :
 - Alkohol 70 % ½ jam
 - Alkohol 95% ½ jam
 - Alkohol 100% ½ jam
 - Alkohol 100% 1 jam
 - Alkohol 100% 1 jam
 - Alkohol 100% 1 jam
 - Alkohol 100% - xylol ½ jam
 3. Clearing dengan tahapan :
 - Xylol 1 jam
 - Xylol 2 jam
 4. Impregnasi dengan tahapan :

Jaringan diinkubasi dalam cairan parafin setelah itu dimasukkan dalam oven/inkubator dengan suhu 55 - 57⁰C.

 - Parafin 2 ½ jam
 - Parafin 4 jam

5. Selanjutnya dilakukan embedding jaringan atau blok parafin. Harus dipastikan seluruh keping jaringan berada dipermukaan sehingga akan utuh dalam pemotongan dengan mikrotom. Sebelum dilakukan pemotongan, blok parafin didinginkan pada lempeng pendingin atau lemari es.
6. Kemudian pita potongan tipis parafin dimekarkan dengan cara beragam, antara lain dengan menggunakan penangas air atau ditempelkan langsung pada kaca benda yang telah dibasahi air kemudian diletakkan pada lempeng penghangat dengan suhu 60⁰C pada floating bath.
7. Lakukan deparafinisasi untuk melarutkan parafin yang terdapat pada jaringan dengan menggunakan xylol dan rehidrasi dengan menggunakan air kran karena pewarnaan yang akan digunakan adalah berbasis air.
8. Lakukan proses pewarnaan dengan tahap :
Hematoxylin → diferensiasi – air kran → Eosin → dehidrasi → clearing → mounting.

Lampiran 3. Hasil Kadar Gula Darah Hewan Percobaan Kelompok Kontrol Dan Perlakuan Pada 3 Kali Pemeriksaan.

Tabel. Nilai kadar glukosa tikus kelompok kontrol pemeriksaan ke – I,II,III

| KELOMPOK | SKOR | | |
|------------------|------|-----|-----|
| | I | II | III |
| Kontrol 1 | 105 | 100 | 105 |
| 2 | 105 | 105 | 104 |
| 3 | 103 | 105 | 105 |
| 4 | 105 | 100 | 100 |
| 5 | 108 | 107 | 108 |
| 6 | 93 | 100 | 99 |
| 8 | 115 | 110 | 110 |
| 9 | 93 | 100 | 97 |
| 10 | 112 | 109 | 110 |
| 11 | 98 | 98 | 100 |
| 12 | 97 | 100 | 99 |
| 13 | 95 | 97 | 100 |
| 14 | 104 | 105 | 100 |
| 15 | 105 | 103 | 106 |
| 16 | 107 | 110 | 114 |

Tabel. Nilai kadar glukosa tikus kelompok perlakuan pemeriksaan ke – I ,II,III

| KELOMPOK | SKOR | | |
|--------------------|------|-----|-----|
| | I | II | III |
| Perlakuan 1 | 100 | 290 | 310 |
| 2 | 108 | 300 | 310 |
| 3 | 100 | 314 | 329 |
| 4 | 98 | 310 | 310 |
| 5 | 103 | 320 | 325 |
| 6 | 105 | 324 | 326 |
| 8 | 105 | 294 | 296 |
| 9 | 108 | 290 | 300 |
| 10 | 98 | 314 | 317 |
| 11 | 93 | 285 | 290 |
| 12 | 91 | 310 | 343 |
| 13 | 103 | 308 | 312 |
| 14 | 117 | 344 | 345 |
| 15 | 105 | 307 | 310 |
| 16 | 108 | 297 | 300 |

Lampiran 4. Hasil penilaian mikroskopis testis menurut kriteria skor *Johnsen*.

NILAI HISTOPATOLOGI SPERMATOGENESIS TESTIS TIKUS *W1STAR*
DIABETES MELITUS KELOMPOK KONTROL DAN PERLAKUAN
BERDASARKAN MODIFIKASI JOHNSEN SKOR

| Kelompok/Skor | Lapang Pandang | | | | |
|--------------------|----------------|----|-----|----|----|
| | I | II | III | IV | V |
| Kontrol 1 | 10 | 10 | 7 | 7 | 8 |
| 2 | 7 | 7 | 5 | 8 | 8 |
| 3 | 10 | 7 | 10 | 10 | 10 |
| 4 | 10 | 10 | 10 | 8 | 10 |
| 5 | 10 | 10 | 7 | 10 | 10 |
| 6 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 7 | 7 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 8 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 9 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 11 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 12 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 13 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 14 | 10 | 7 | 10 | 10 | 10 |
| 15 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 16 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Kelompok/Skor | I | II | III | IV | V |
| Perlakuan 1 | 10 | 7 | 9 | 9 | 8 |
| 2 | 9 | 9 | 8 | 9 | 6 |
| 3 | 8 | 8 | 6 | 6 | 10 |
| 4 | 9 | 10 | 7 | 10 | 7 |
| 5 | 10 | 7 | 10 | 7 | 10 |
| 6 | 10 | 4 | 10 | 3 | 3 |
| 7 | 10 | 9 | 10 | 7 | 10 |
| 8 | 8 | 10 | 10 | 9 | 8 |
| 9 | 10 | 8 | 7 | 10 | 10 |
| 10 | 10 | 10 | 7 | 8 | 8 |
| 11 | 7 | 7 | 8 | 10 | 10 |
| 12 | 7 | 10 | 10 | 10 | 5 |
| 13 | 9 | 9 | 9 | 9 | 7 |
| 14 | 7 | 10 | 7 | 9 | 10 |
| 15 | 10 | 10 | 9 | 7 | 10 |
| 16 | 8 | 10 | 7 | 10 | 10 |

Semarang, Jumat 29 April 2016

Pembaca



dr. Ika Pawitra Miranti, M.kes., Sp.PA

Lampiran 5. Hasil SPSS

Explore

Kelompok

Case Summaries

Spermatogenesis testis

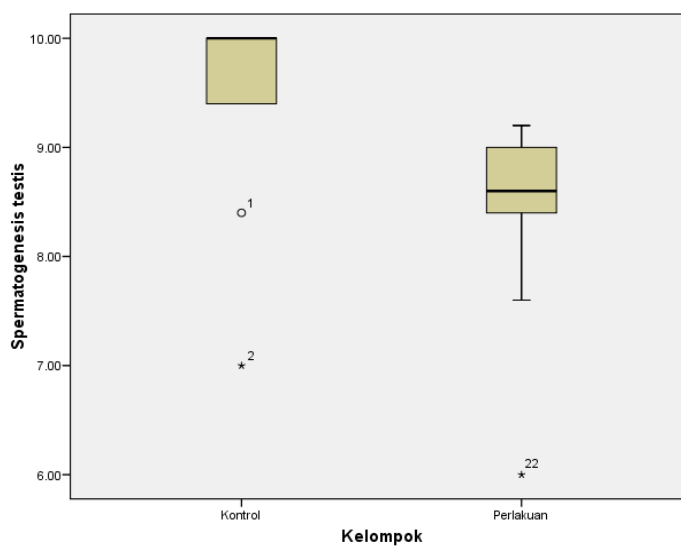
| Kelompok | N | Mean | Std. Deviation | Median | Minimum | Maximum |
|-----------|----|--------|----------------|---------|---------|---------|
| Kontrol | 16 | 9.5375 | .80571 | 10.0000 | 7.00 | 10.00 |
| Perlakuan | 16 | 8.4875 | .77621 | 8.6000 | 6.00 | 9.20 |
| Total | 32 | 9.0125 | .94348 | 9.1000 | 6.00 | 10.00 |

Tests of Normality

| | Kelompok | Shapiro-Wilk | | |
|------------------------|-----------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. |
| Spermatogenesis testis | Kontrol | .633 | 16 | .000 |
| | Perlakuan | .731 | 16 | .000 |

a. Lilliefors Significance Correction

Spermatogenesis testis



NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

| | Kelompok | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|------------------------|-----------|----|-----------|--------------|
| Spermatogenesis testis | Kontrol | 16 | 22.81 | 365.00 |
| | Perlakuan | 16 | 10.19 | 163.00 |
| | Total | 32 | | |


Test Statistics^b

| | Spermatogenesis testis |
|--------------------------------|------------------------|
| Mann-Whitney U | 27.000 |
| Wilcoxon W | 163.000 |
| Z | -3.863 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .000 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .000 ^a |

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Lampiran 6. Ethical clearance

| | | |
|---|---|---|
|  | KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO DAN RSUP dr KARIADI SEMARANG Sekretariat : Kantor Dekanat FK Undip Lt.3 Jl. Dr. Soetomo 18. Semarang Telp/Fax. 024-8318350 |  |
|---|---|---|

ETHICAL CLEARANCE
No. 421/EC/FK-RSDK/2016

Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro-RSUP. Dr. Kariadi Semarang, setelah membaca dan menelaah Usulan Penelitian dengan judul :

"HISTOPATOLOGI SPERMATOGENESIS TESTIS TIKUS WISTAR DIABETES MELITUS "

Peneliti Utama : *Siera Adelati*

Pembimbing : dr. Achmad Zulfa, M.Si.Med., Sp.And.,PhD


Penelitian : Dilaksanakan di Laboratorium Hewan FK UNDIP

Setuju untuk dilaksanakan, dengan memperhatikan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki 1975, yang diamended di Seoul 2008 dan Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI 2011

Pada laporan akhir peneliti harus melampirkan cara pemeliharaan & dekapitasi hewan coba dan melaporkan ke KEPK bahwa penelitian sudah selesai dilampiri Abstrak Penelitian.

Semarang, 11 APR 2016

Ketua,
KEPK
FK UNDIP
RSUP dr. Kariadi Semarang
Prof. Dr. Suprihati, M.Sc, Sp.THT-KL(K)
No. 197703 2 001



Lampiran 7. Surat ijin laboratorium dan surat keterangan telah selesai melakukan penelitian di Laboratorium Hewan Coba FK Undip



**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS KEDOKTERAN**

Jl. Prof. H. Soedarto, SH – Tembalang – Semarang Telepon 024-76928010, Fax. 024-76928011
Email : dean_findu@undip.ac.id

Nomor : 2758 /UN7.3.4/D1/PG/2016
Lampiran : -
Perihal : **Permohonan Ijin Penelitian**

28 MAR 2016

Yth. Sdr. Siera Adelati (22010112130087)
Fakultas Kedokteran Undip
Semarang

Memperhatikan surat Saudara tanggal 4 Maret 2016 perihal tersebut pada pokok surat, dengan ini kami beritahukan bahwa pada prinsipnya kami mengijinkan Sudara untuk melakukan penelitian dengan judul “Histopatologi Spermatogenesis Testis Tikus Wistar Diabetes Melitus” di Laboratorium Hewan Coba FK Undip. Selanjutnya secara teknis, saudara dapat menghubungi koordinator Laboratorium Hewan Coba FK Undip.

Atas perhatian dan kerjasama yang baik kami ucapkan terima kasih.

a.n. Dekan
Pembantu Dekan I

Dr. dr. Dwi Pudjonarko, M.Kes.,Sp.S(K)
NIP. 196607201995121001

Tembusan:

1. Dekan
2. Pembantu Dekan IV
3. Dosen Pembimbing
4. Koordinator Laboratorium Hewan Coba



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS KEDOKTERAN
LABORATORIUM HEWAN COBA

Jl. Prof. H. Soedarto, SH – Tembalang – Semarang Telepon 024-76928010, Fax. 024-76928011
Email : dean_fmdu@undip.ac.id

SURAT KETERANGAN

Nomor : 3867 /UN7.3.4/D4/PG/2016

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro menerangkan bahwa :

Nama : Siera Adelati
NIM/ Angkatan : 22010112130087
Prodi / Jurusan : Kedokteran Umum

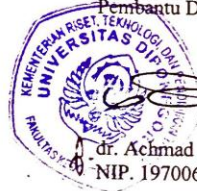
telah melaksanakan penelitian sejak tanggal 26 Februari sampai dengan 21 April 2016 dengan judul "Hispatologi Spermatogenesis Testis Tikus Wistar Diabetes melitus" dan sudah tidak mempunyai tanggungan administratif apapun di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang


Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

10 MAY 2016

a.n. Dekan

Pembantu Dekan IV,




dr. Achmad Zulfa Juniarto, M.Si.Med.,Sp.And., Ph.D
NIP. 197006081997021001

Lampiran 8. Gambar dokumentasi penelitian



Gambar kandang per-kelompok



Gambar jumlah tikus *Wistar* per-kandang



Gambar injeksi aloksan 150mg/kgBB intraperitoneal



Gambar pengukuran kadar gula darah tikus *Wistar*



Gambar euthanasia tikus *Wistar* dengan menggunakan ether



Gambar pengambilan testis tikus *Wistar*.



Gambar pengirisan testis supaya jaringan testis terfiksasi secara menyeluruh didalam buffer formalin 10%.



Gambar fiksasi testis didalam buffer formalin 10%.



Gambar pemotongan makroskopis testis yang telah terfiksasi buffer formalin 10%.



Gambar pembuatan blok parafin dan pengecatan HE.



Gambar slide preparat testis.